Journal of Water and Soil
https://jsw.um.ac.ir

Research Article
Vol. 36, No. 1, March-April 2022, p. 67-79

Interactive Effects of Pb $(NO_3)_2$, Biochar and Salicylic acid on Growth Characteristics of Thyme (*Thymus vulgaris* L.)

B. Rezaei[1], A.A. Amirinejad[2]*, M. Ghobadi[3]

Received: 11-11-2021 Revised: 15-12-2021 Accepted: 29-01-2022 Available Online: 20-05-2022	**How to cite this article:** Rezaei B., Amirinejad A.A., and Ghobadi M. 2022. Intraction Effects of Pb $(NO_3)_2$, Biochar and Salicylic acid on Growth Characteristics of Thyme (*Thymus vulgaris* L.). Journal of Water and Soil 36(1): 67-79. (In Persian with English abstract) **DOI:** 10.22067/JSW.2022.72977.1101

Introduction

Industrial development has resulted in higher soils pollution with heavy metals. Plants which are subjected to heavy metals may severely lose their yield capabilities. Applying improving compounds in the soil is a new method to reduce effects of heavy metals on plants growth. Biochar as a carbon rich source and salicylic acid as an important plant hormone, are two main compounds to alleviate heavy metals stresses in plants. These are the cost-effective and environmentally friendly substances for increasing the resistance of plants. Lead (Pb), as a common and extremely poisonous element in polluted soils, can be accumulated due to its non-biodegradability nature. When Pb content in plants reaches a toxic level, it can inhibit plant growth by reducing enzyme activities and photosynthesis and changing mineral nutrients balance. However, with regard to the program of expanding the area under cultivation of medicinal plants, including thyme, there is a possibility of contamination of soils in the vicinity of industrial centers and roads with lead. Therefore, the present study was conducted to evaluate the effects of salicylic acid as a plant growth stimulant and biochar made of rapeseed wastes, as a stable organic compound, on alleviation of Pb-induced stress in thyme (*Thymus vulgaris* L.).

Materials and Methods

In order to investigate the effects of salicylic acid (SA) and biochar (BC) on reducing Pb stress in thyme (*Thymus vulgaris* L.), a factorial experiment was conducted based on a completely randomized design with three replications in the greenhouse of Razi University. The factors included Pb at three levels (0, 150, and 300 mg/kg as $Pb(NO_3)_2$), SA at three levels (0, 150, and 300 μM) and BC at three levels (0, 1 and 3% by weight). To apply the Pb treatments, the soil samples of each pot (8 kg) were sprayed with $Pb(NO_3)_2$ solutions, 4 weeks before planting, according to the contamination levels. Then, BC treatments were performed by mixing it with the soil samples. In each pot, four thyme seedlings were planted. At four-leaf stage, SA solutions were sprayed three times on foliage of the thyme plants , until the beginning of flowering. After harvesting, some characteristics of aerial and root parts of thyme, including soluble sugars and proline contents, plant height, dry weights of shoots and roots, root volume and root length were determined. All plant parameters were then averaged for each pot. Also, Pb concentrations in extracts obtained from digestion of leaf tissues, were measured by Varian AA220 atomic absorption spectrophotometer. The analysis of variance (ANOVA) and comparison of means (Duncan's multiple range test) were performed using SPSS-16 software.

Results and Discussion

The results revealed that Pb stress reduced all plant characteristics, such as plant height, root volume and root length, as well as, dry weights of shoots and roots, and elevated leaf Pb concentration, proline content and

1 and 2- M.Sc Student and Assistant Professor, Department of Soil Science and Engineering, Razi University, Kermansh, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: aliamirinejad@razi.ac.ir)
3- Associate Professor Department of Production Engineering and Plant Genetics, Razi University, Kermansh, Iran

soluble sugars in thyme. However, BC application resulted in improvements in growth parameters. The positive effect of BC was further enhanced when SA was sprayed onto the foliage of the thyme plants. The interaction effects of SA, BC and Pb treatments on the growth parameters of thyme, i.e, shoot dry weight, root volume, Pb concentration, soluble sugars and proline contents were significant ($P < 0.01$). In other words, SA and BC treatments moderated the negative effects of Pb on the growth traits. The highest Pb concentration (4.83 mg) and proline content (37.8 μmol/g) were obtained in 300 μg/kg of Pb, and SA and BC controls. Also, the highest concentration of soluble sugars (0.46 mg/kg) was found at 300 mg/kg of Pb, 300 μM SA and BC control.

Conclusion

Our results indicated the positive effects of SA and BC treatments on the growth parameters, such as; shoot and root dry weights in thyme plants, especially under Pb stress. In other words, Pb stress, while reducing all growth characteristics, increased proline content and soluble sugars in thyme. In general, it seems that under Pb stress, treatment of thyme with SA (as a plant growth regulator) and BC (as an organic matter with high viability in the soil) is a simple and appropriate method in order to increase the plant's resistance and reduce the effects of Pb toxicity on the overall growth of thyme.

Keywords: Growth characteristics, Heavy metals, Soil improving compounds

نشریه آب و خاک
https://jsw.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۳۶، شماره ۱، فروردین- اردیبهشت ۱۴۰۱، ص ۶۷-۷۹

اثرات متقابل سرب نیترات، سالیسیلیک اسید و بیوچار بر ویژگی‌های رشدی گیاه آویشن (*Thymus vulgaris* L.)

بهاره رضایی[1]- علی اشرف امیری نژاد[2*]- مختار قبادی[3]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۸/۲۰
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۱/۰۹

چکیده

از روش‌های نوین کاهش اثرات فلزات سنگین بر رشد گیاهان، کاربرد ترکیبات اصلاح‌کننده در خاک است. بمنظور ارزیابی اثرات متقابل سرب نیترات، سالیسیلیک اسید و بیوچار بقایای کلزا بر بر ویژگی‌های رشدی گیاه دارویی آویشن (*Thymus vulgaris* L.)، آزمایشی به صورت فاکتوریل، در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در شرایط گلخانه‌ای انجام گرفت. فاکتورها شامل غلظت سرب در سه سطح (۰، ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک به صورت سرب نیترات)، سالیسیلیک اسید در سه سطح (۰، ۱۵۰ و ۳۰۰ میکرومولار) و بیوچار در سه سطح (۰، ۱ و ۳ درصد وزنی) بودند. نتایج نشان داد که تنش سرب تمام ویژگی‌های رشدی گیاه را کاهش داده اما تیمارهای سالیسیلیک اسید و بیوچار موجب تعدیل اثرات منفی سرب بر این خصوصیات گردید. اثر متقابل تیمارها بر ویژگی‌های رشدی از قبیل وزن خشک شاخساره و حجم ریشه و نیز مقدار قندهای محلول، پرولین و سرب معنادار بود ($P<0/01$). بیش‌ترین مقدار سرب (۴/۸۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و پرولین (۳۷/۸ میکرومول بر گرم) در تیمار ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب و شاهد بیوچار و سالیسیلیک اسید به دست آمد. بطورکلی می‌توان گفت که کاربرد همزمان سالیسیلیک اسید و بیوچار یک روش آسان، ارزان و موثر در راستای کاهش اثرات تنش سرب بر رشد گیاه آویشن است.

واژه‌های کلیدی: ترکیبات اصلاح‌کننده خاک، عناصر سنگین، ویژگی‌های رشدی

مقدمه

یکی از مسائل مهم زیست محیطی، آلودگی خاک‌های کشاورزی با فلزات سنگین است. این فلزات به علت اینکه قابلیت تحرک کمی دارند در خاک تجمع یافته و این موضوع آن را به زنگ خطری برای محیط زیست تبدیل کرده است (Pikuła and Stepien, 2021). کم تحرک‌ترین عنصر سنگین که گاهی تا ۱۵۰ سال در خاک باقی می‌ماند، سرب است. به علت اینکه سرب در لایه سطحی خاک انباشته می‌شود، به راحتی از طریق ریشه جذب شده و در نتیجه سمیت آن برای گیاهان حدود بیست برابر بقیه عناصر است (Sharma and Dubey, 2005). در گیاهان، سمیت سرب موجب تنش اکسیداتیو شده و با تأثیر در بعضی فرآیندهای سوخت و ساز، موجب کاهش شدید رشد بخش‌های هوایی می‌شود. به عنوان مثال، سرب با افزایش فعالیت کلروفیلاز موجب تجزیه کلروفیل و کاهش فعالیت فتوسنتزی گیاهان می‌گردد (Zhou *et al*., 2018).

یکی از راه‌های مقابله با تنش سرب، استفاده از ترکیبات اصلاح‌کننده با کارایی بالا و مقرون به صرفه است. سالیسیلیک اسید یا ارتو هیدروکسی بنزوئیک اسید، یکی از مشتقات فنلی است که با ایجاد یک سری واکنش‌های متابولیک در گیاهان، موجب افزایش سازگاری آن‌ها در برابر تنش‌های محیطی و از جمله افزایش مقاومت گیاه در برابر تنش فلزات سنگین می‌گردد (Metwally *et al*., 2015). به عنوان مثال، گزارش شده که کاربرد اسید سالیسیلیک اثرات سمی سرب را در گیاه دارویی مریم گلی (*Salvia officinalis* L.) کاهش داده است (Teiymouri *et al*., 2021).

همچنین، در سالیان اخیر استفاده از بیوچار برای اصلاح کیفیت

۱ و ۲- به‌ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد و استادیار، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: aliamirinejad@razi.ac.ir)
۳- دانشیار گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران
DOI: 10.22067/JSW.2022.72977.1101

فیزیکی و شیمیایی خاک مورد توجه قرار گرفته است. این ماده که از تجزیه بقایای گیاهی مانند پوسته میوه‌ها و ضایعات کشاورزی در شرایط بدون اکسیژن حاصل می‌گردد، با افزایش میزان ظرفیت تبادل کاتیونی (CEC)، ظرفیت نگهداشت آب در خاک و وضعیت تهویه، کیفیت خاک را بهبود می‌بخشد (Carter *et al*., 2013). علاوه بر این، بیوچار می‌تواند موجب تغییر شکل قابل جذب و یا تثبیت فلزات سنگین در خاک شود. به عبارتی، بیوچار به دلیل دارا بودن گروه‌های عاملی مانند کربوکسیل و کربونیل و نیز خاصیت بازی، ساختار متخلخل و سطح ویژه بالا، توانایی دسترسی آلاینده‌های معدنی خاک را کاهش می‌دهد. فرایند جذب فلزهای سنگین نیز در قالب یکسری واکنش‌های الکتروستاتیک، مبادله یونی، ته‌نشست و رسوب شیمیایی و یا ایجاد کمپلکس با گروه‌های عاملی در سطوح بیوچار صورت می‌گیرد (Biria *et al*., 2016). البته خصوصیات بیوچار تولیدی مانند CEC، سطح ویژه و pH به نوع ماده آلی مورد استفاده، دمای سیستم و میزان اکسیژن در طی فرایند پیرولیز بستگی دارد (Ahmad *et al*., 2012). فیضی و همکاران (2021) Feizi *et al*., در بررسی اثرات بیوچار و سالیسیلیک اسید بر کاهش تنش سرب در گیاه ریحان (*Ocimum basilicum* L.) گزارش کرده‌اند که کاربرد سالیسیلیک اسید و بیوچار ضمن کاهش غلظت سرب شاخساره، توانست بطور قابل ملاحظه‌ای اثرات تنش سرب بر ویژگی‌های رشدی ریحان را کاهش دهد.

تیموری و همکاران (2021) Teiymouri *et al*., نیز در بررسی اثرات بیوچار و سالیسیلیک اسید بر کاهش تنش سرب در گیاه مریم-گلی (*Salvia officinalis* L.) گزارش کرده‌اند که کاربرد هم‌زمان بیوچار و سالیسیلیک اسید؛ به عنوان یک استراتژی ساده و کم هزینه، توانست با افزایش غلظت پرولین و قندهای محلول، اثرات منفی سرب بر گیاه مریم گلی را کاهش دهد.

در سال‌های اخیر با توجه به عوارض داروهای شیمیایی و گرایش مردم به محصولات ارگانیک، استفاده از گیاهان دارویی (گیاه درمانی) مورد توجه قرار گرفته است. آویشن (*Thymus vulgaris* L.) یک گیاه دارویی از تیره نعناعیان (Lamiaceae) است که خاصیت ضد باکتریایی، ضد قارچی و ضد ویروسی دارد. مواد مؤثره آویشن بسیار خلط‌آور بوده و عصاره تهیه شده برای تسکین سرفه و گلودرد به‌کار می‌رود. این گیاه که به شکل دم‌کرده، عصاره روان، شربت و پودر مورد استفاده قرار می‌گیرد (Omidbeigi, 2010) دارای ساختار بوته‌ای با برگ‌های خوشبو و ساقه علفی و پرانشعاب بوده و معمولا" تا ارتفاع ۳۵ سانتی‌متر رشد می‌کند. اگرچه این گیاه بومی ایران نیست اما کشت آن جهت برآورده کردن نیاز داخلی و صادرات مهم است. در مناطق نیمه خشک تا معتدل رویش مناسب داشته اما بیشترین میزان اسانس آن در وضعیت نور طبیعی و ۵۰ درصد رطوبت خاک به دست می‌آید (Barraza *et al*., 2021).

به هر حال، با توجه به برنامه گسترش سطح زیرکشت گیاهان دارویی و از جمله آویشن در کشور و امکان تجمع سرب در خاک حاشیه مراکز صنعتی و جاده‌ها، بررسی نحوه اصلاح محیط خاک و کاهش قابلیت جذب سرب برای گیاهان با روش‌های آسان و کم هزینه که در زمان کوتاه نیز نتیجه‌بخش باشد، مورد تأکید است. در این راستا، مطالعه اثرات متقابل سالیسیلیک اسید، به عنوان یک محرک رشد گیاهی و بیوچار کلزا، به عنوان یک ترکیب آلی پایدار در خاک، در کاهش اثرات منفی سرب بر رشد گیاه دارویی آویشن مورد توجه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه دانشگاه رازی انجام شد. نمونه‌برداری خاک از لایه سطحی (عمق ۰ تا ۳۰ سانتی‌متری) زمین‌های کشاورزی منطقه ماهیدشت استان کرمانشاه، با عرض جغرافیایی ۳۴ درجه و ۹ دقیقه و ۴۲ ثانیه شمالی و طول جغرافیایی ۴۶ درجه و ۳۶ دقیقه و ۱۲ ثانیه شرقی، تهیه شد. تجزیه اولیه نمونه‌های خاک شامل تعیین بافت خاک با روش هیدرومتر (Bouyoucos, 1962)، pH و قابلیت هدایت الکتریکی (EC) خاک در نسبت ۱:۲/۵ توسط pH متر و هدایت‌سنج الکتریکی (Klute, 1986)، کربنات کلسیم معادل به روش خنثی‌سازی با اسید کلریدریک (Allison and Moodie, 1965)، کربن آلی به روش تیتراسیون با فروسولفات آمونیم (Walkley and Black, 1934)، جرم مخصوص ظاهری به روش استوانه (Klute, 1986) و ظرفیت تبادل کاتیونی (CEC) به روش استات آمونیوم (Klute, 1986) صورت گرفت. جدول ۱ ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی نمونه خاک مورد استفاده را نشان می‌دهد.

تیمارهای آزمایشی شامل غلظت سرب در سه سطح (۰، ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک از نمک سرب نیترات)، سالیسیلیک اسید در سه سطح (۰، ۱۵۰ و ۳۰۰ میکرومولار) و بیوچار در سه سطح (۰، ۱ و ۳ درصد وزنی) بودند. انتخاب سطوح تیمارها بر اساس نتایج تحقیقات قبلی در خصوص گیاه آویشن و سایر گیاهان مشابه صورت گرفت (Feizi *et al*., 2021; Mehdimiri *et al*., 2015; Padash *et al*., 2016; Teiymouri *et al*., 2021). جهت اعمال تیمار سرب، ۴ هفته قبل از کاشت، نمونه خاک هر گلدان (به میزان ۸ کیلوگرم)، با توجه به سطح آلودگی، با محلول نیترات سرب اسپری گردید. طی این مدت، نمونه‌های خاک ضمن به‌هم‌زدن به حالت مرطوب نگه‌داشته شد. سپس تیمارهای بیوچار به صورت مخلوط‌کردن با خاک انجام گردید. برای سهولت زهکشی، در کف هر گلدان مقداری پرلیت و پوکه معدنی اضافه و سپس نمونه خاک ریخته شد.

جدول ۱- ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده

Table 1- Physical and chemical properties of the soil sample

سرب Pb (mg kg^{-1})	ظرفیت تبادل کاتیونی CEC (cmol$_c$ kg^{-1})	B (mg.kg^{-1})	Mn (mg.kg^{-1})	Cu (mg.kg^{-1})	Zn (mg.kg^{-1})	Fe (mg.kg^{-1})	K_{avb} (mg.kg^{-1})	P_{avb} (mg.kg^{-1})	N_t (%)	کربن آلی OC (%)	آهک $CaCO_3$ (%)	قابلیت هدایت الکتریکی EC (dS m^{-1})	پ هاش pH	شن Sand (%)	سیلت Silt (%)	رس Clay (%)
0.17	11.5	1.5	7.6	1.3	1.8	9.5	182	7.6	0.09	0.93	26.5	0.5	7.7	16.4	42.6	41

در هر گلدان چهار نشاء آویشن (*Thymus vulgaris* L.) به صورت دایره‌ای کاشته شد. بر اساس نتایج تجزیه خاک، مقادیر کودهای نیتروژن و فسفر به خاک مورد آزمایش اضافه شدند. به عبارتی، به خاک هر گلدان حدود ۷۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیتروژن (به صورت کود اوره محلول در آب) و حدود ۷۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اکسید فسفر (P_2O_5) (به صورت کود سوپرفسفات تریپل) اضافه و بلافاصله آبیاری انجام گردید. با توجه به نتایج آزمون خاک، کمبودی از نظر عناصر غذایی کم مصرف برای گیاهان ایجاد نگردید.

آبیاری گلدان‌ها تا پایان دوره رویشی در حد ظرفیت گلدانی انجام شد. جهت تعیین درصد رطوبت ظرفیت گلدانی، یک گلدان را با آب اشباع کرده و بعد اجازه داده شد تا در مدت ۴۸ ساعت زهکشی انجام شود. برای جلوگیری از تبخیر، سطح گلدان توسط نایلون پوشیده شد. با خروج آب ثقلی و زمانی که وزن گلدان‌ها ثابت شد، یک نمونه خاک از داخل گلدان برداشته و رطوبت آن تعیین شد. برای دوری از تنش رطوبتی، گلدان‌ها هر روز توزین و با فواصل کوتاه (بسته به دوره رشد گیاه) تا رسیدن به ۷۰ درصد رطوبت ظرفیت گلدانی با آب مقطر آبیاری شدند.

در مرحله چهار برگی، تیمار سالیسیلیک اسید به صورت محلول‌پاشی تا خیس شدن کامل سطح برگ‌ها در سه مرحله و با فاصله ده روز یک بار تا شروع گلدهی گیاه صورت گرفت. در محلول، قطره توین (با غلظت ۰/۱ درصد) به عنوان سورفاکتانت، جهت جذب بهتر سالیسیلیک اسید اضافه شد. تیمار شاهد با آب مقطر اسپری گردید.

پارامترهای گیاهی اندازه‌گیری شده در پایان دوره رویشی (قبل از شروع گلدهی گیاه) شامل تعیین قطر ساقه (توسط کولیس دیجیتالی) و ارتفاع گیاه (با خط‌کش)، وزن خشک بخش هوایی و ریشه‌ها (خشک‌شده در آون در دمای ۷۵ درجه سلسیوس به مدت ۷۲ ساعت) و حجم ریشه هر گلدان (از طریق جابجایی حجم آب در یک استوانه مدرج) بودند.

همینطور غلظت سرب شاخساره با استفاده از دستگاه جذب اتمی مدل AA220 شرکت Varian استرالیا تعیین شد. برای این منظور، ۰/۵ گرم پودر خشک شاخساره را (با یک بوته چینی) در کوره الکتریکی قرار داده و دمای کوره به‌تدریج و در عرض ۲ ساعت به ۵۵۰ درجه سلسیوس رسانیده شد. بعد از حدود ۶ ساعت، خاکستر حاصل را با کمی آب خیس کرده و سپس به آرامی ۲/۵ میلی‌لیتر کلریدریک اسید ۲ مولار افزوده شد. بعد از انجام فعل و انفعالات لازم بر روی هات پلیت و خروج بخارات، محتویات بوته را در یک بالن ژوژه ۲۵ میلی‌لیتری صاف کرده و سپس با آب مقطر ولرم به حجم رسانیده شد. در نهایت، غلظت سرب عصاره توسط دستگاه جذب اتمی تعیین گردید (Klute, 1986).

مقدار قندهای محلول با روش کالریمتری (Dubois *et al*., 1956) و پرولین با روش بیتس و همکاران (Bates *et al*., 1973) تعیین گردیدند.

تهیه بیوچار با استفاده از فرایند پیرولیز بقایای مزرعه کلزا در دمای ۳۵۰ درجه سلسیوس در شرایط کم‌هوازی صورت گرفت (Wang *et al*., 2018). بیوچار تهیه شده پس از عبور از الک دو میلی‌متری، برای اندازه‌گیری بعضی ویژگی‌های مهم استفاده شد. راندمان بیوچار با توجه به نسبت وزنی کاه و کلش اولیه به بیوچار تولیدی تعیین شد. pH و قابلیت هدایت الکتریکی (EC) بیوچار در نسبت ۱:۵ آب به بیوچار توسط دستگاه pH متر و EC متر اندازه‌گیری گردید. سطح ویژه بیوچار نیز بر اساس میزان جذب گاز نیتروژن در سطح جاذب تعیین شد (Leng *et al*., 2021). همچنین، میزان سدیم و پتاسیم با روش فلیم فتومتری اندازه گیری شدند. جدول ۲ ویژگی‌های بیوچار تولیدی را نشان می‌دهد.

بررسی ویژگی‌های بیوچار کلزا تولیدی نشان می‌دهد که pH آن ۸/۹ با ماهیت قلیایی بوده که دلیل این موضوع آزاد شدن نمک‌های قلیایی در طی فرآیند پیرولیز است (Carter *et al*., 2013). البته به دلیل اسیدیتی قلیایی اکثر خاک‌های ایران، افزودن پیوسته بیوچار ممکن است اثر مخرب بر کیفیت خاک داشته باشد. میزان قابلیت هدایت الکتریکی (EC) نیز به دلیل آزاد شدن یون‌های معدنی حین فرآیند پیرولیز ۵/۴۵ دسی‌زیمنس بر متر بود. سطح ویژه و CEC بیوچار تولیدی نیز بالا بود.

جدول ۲- ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی بیوچار کلزای مورد استفاده

Table 2- Physical and chemical properties of the biochar used.

ظرفیت تبادل کاتیونی CEC ($cmol_c/kg^{-1}$)	کربن آلی OC (٪)	منیزیم Mg ($cmol_c$/kg)	کلسیم Ca ($cmol_c$/kg)	پتاسیم K ($cmol_c$ /kg)	سدیم Na ($cmol_c$/kg)	قابلیت هدایت الکتریکی EC (dS/m)	pH	سطح ویژه Surface area (m^2/g)
82.8	29.3	7.51	63.6	2.34	3.91	5.5	8.9	26.4

در پایان، تجزیه واریانس داده‌ها با نرم‌افزار SPSS-16 انجام شد. برای مقایسه میانگین‌ها نیز از آزمون چند دامنه‌ای دانکن (Duncan) در سطح آماری پنج درصد استفاده گردید.

نتایج و بحث

اثرات متقابل سالیسیلیک اسید، سرب نیترات و بیوچار بر صفات بیوشیمیایی و مورفولوژیک بخش هوایی آویشن

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات متقابل سالیسیلیک اسید، سرب نیترات و بیوچار بر صفات بیوشیمیایی (غلظت سرب و مقادیر پرولین و قندهای محلول) بخش هوایی گیاه و ویژگی‌های مورفولوژیک (وزن خشک شاخساره و ارتفاع گیاه) معنادار بوده است ($P < 0.01$) (جدول ۳).

غلظت سرب شاخساره

بر اساس نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، بیش‌ترین مقدار سرب شاخساره گیاه آویشن (۴/۸۳ میلی‌گرم) در تیمار ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب و شاهد بیوچار و سالیسیلیک اسید به دست آمده است (جدول ۵). مشابه این نتیجه، Feizi *et al.,* (2021) گزارش کرده‌اند که افزایش غلظت سرب در خاک، موجب بالارفتن مقدار سرب اندام‌های هوایی ریحان (*Ocimum basilicum* L.) شده است. از آنجا که سرب کم تحرک‌ترین عنصر سنگین در خاک است و در لایه سطحی خاک تجمع می‌یابد، لذا به راحتی از طریق ریشه‌ها جذب و به بخش‌های هوایی گیاهان وارد می‌شود. وجود سرب در گیاهان، با افزایش فعالیت کلروفیلاز موجب تجزیه کلروفیل و یا کاهش تولید آن شده و با اختلال در فرایند فتوسنتز، باعث کاهش زیست‌توده بخش‌های هوایی و ریشه می‌شود (Parsa Doust *et al.,* 2007). از دیگر آثار سمیت سرب در گیاهان، تنش اکسیداتیو و جلوگیری از جذب مواد و عناصر غذایی است (Zhou *et al.,* 2018).

کم‌ترین غلظت سرب (۰/۶۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم) نیز در تیمار ۳۰۰ میکرومولار سالیسیلیک اسید، ۳ درصد وزنی بیوچار و شاهد سرب به‌دست آمد. به عبارتی، کاربرد سالیسیلیک اسید و بیوچار در خاک موجب کاهش مقدار سرب شاخساره آویشن گردیدند. تاثیر بیوچار و سالیسیلیک اسید در کاهش مقدار سرب اندام‌های هوایی مریم‌گلی توسط Teiymouri *et al.,* (2021) نیز گزارش شده است. بیوچار با جذب آلاینده‌های معدنی مثل فلزات سنگین، تحرک و زیست فراهمی آن‌ها را در خاک کاهش می‌دهد (Biria *et al.,* 2016). از طرفی، سالیسیلیک اسید به طور قابل توجهی، تجمع یون سرب را در گیاهان کاهش می‌دهد (Padash *et al.,* 2016). به عبارتی، سالیسیلیک اسید باعث بهبود عوارض سوء ناشی از جذب سرب در گیاهان می شود.

جدول ۳- تجزیه واریانس ویژگی‌های بخش هوایی گیاه آویشن برای اثرات سالیسیلیک اسید، سرب و بیوچار

Table 3- Analysis of variance for effects of salisilic acid (SA), Pb, and biochar (BC) on characteristics of aerial parts of thyme

منابع تغییرات Source of variation	درجه آزادی df	ارتفاع گیاه Plant height	وزن خشک برگ Leaf dry weight	قندهای محلول Soluble sugars	پرولین Proline	سرب Pb
سالیسیلیک اسید Salisilic acid (A)	2	68.5*	206.8*	1.15*	184.5*	0.63*
سرب Pb (B)	2	87.9*	269.8*	1.26*	973.9**	30.9**
بیوچار Biocha (C)	2	89.1*	191.6*	5.24**	1098**	0.48*
A×B	4	56.9*	217.5**	1.01*	82.3ns	2.3**
A×C	4	75.3**	159.2*	1.12*	25.5ns	1.8**
B×C	4	81.1**	179.6*	0.95*	218.6**	4.8**
A×B×C	8	54.5**	211**	2.83**	153.9**	0.9**
خطا Eror	54	18.23	51.6	0.32	45.8	0.13
ضریب تغییرات (CV) (٪)	_	12.79	18.56	14.32	10.3	23.7

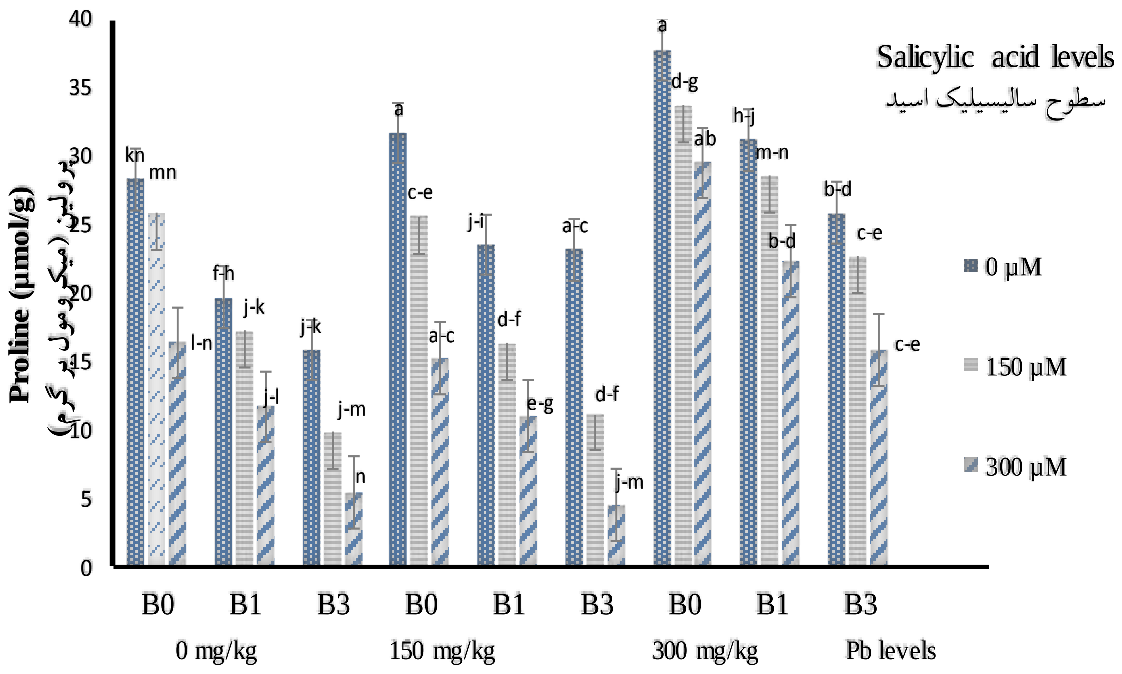
ns ، * و ** به ترتیب عدم معناداری و معنادار بودن در سطح پنج و یک درصد را نشان می دهد.

ns, **, * represent non-significant and significant at the probability levels of 1% 5%, respectively.

مقدار پرولین شاخساره

بیش‌ترین میزان پرولین (۳۷/۸ میکرومول بر گرم) در تیمار ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب، بدون بیوچار و سالیسیلیک اسید به‌دست آمد (شکل ۱). به عبارتی، تنش سرب موجب تولید و انباشت پرولین در بخش‌های هوایی گیاه شد. به عقیده Rasheed *et al.*, (2014)، پرولین در گیاهان تحت تنش‌های محیطی و از جمله تنش فلزات سنگین، نقش آنتی اکسیدان داشته و به عنوان یک محافظ مولکولی، از فعالیت‌های مختلف آنزیمی محافظت می‌کند. بنابراین گیاهان برای افزایش تحمل تنش، تولید این اسید آمینه را افزایش می‌دهند. به عبارت دیگر، مهمترین اثر تخریبی سرب در گیاهان، القاء تنش‌های اکسیداتیو است که باعث تولید رادیکال‌های فعال اکسیژن می‌شود. گیاهان برای مقابله با این رادیکال‌های آزاد، از پرولین به عنوان یک آنتی اکسیدان غیرآنزیمی استفاده می‌کنند. پرولین با اتصال به سرب و تشکیل کمپلکس سرب-پرولین، موجب کاهش سمیت سرب در گیاه می‌گردد (Khan *et al.*, 2016).

کم‌ترین میزان پرولین (۵/۴ میکرومول بر گرم) نیز در تیمار شاهد سرب،۳۰۰ میکرومولار سالیسیلیک اسید و ۳ درصد وزنی بیوچار به‌دست آمد. گزارش شده که در حضور سالیسیلیک اسید و بیوچار، میزان پرولین شاخساره گیاه ریحان در تیمارهای دارای سرب کاهش یافته است (Feizi *et al.*, 2021). به عقیده Padash *et al.*, (2016)، کاربرد سالیسیلیک اسید با بهبود شرایط تغذیه عناصر معدنی و یا فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی، موجب برطرف شدن اثرات سمی سرب در گیاهان می‌شود. همچنین، به‌نظر می‌رسد که بیوچار با غیرمتحرک کردن عنصر سرب در خاک، از طریق تشکیل کمپلکس سرب با کربنات، سولفات و فسفات موجود در بیوچار، موجب کاهش اثرات منفی تنش سرب و کاهش تولید پرولین در گیاه می‌شود (Park *et al.*, 2013).



B1، B2 وB3 به ترتیب کاربرد بیوچار در سطوح ۰، ۱ و ۳ درصد وزنی

B1, .B2 and B3 represent BC application at 0, 1 and 3% by weight.

در هر ستون، میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند بر اساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد اختلاف معنادار ندارند.

In each column, numbers with similar letters are not significantly different (Duncan's test, $p < 0.05$)

شکل ۱- مقایسه میانگین اثرات متقابل سرب، بیوچار و سالیسیلیک اسید بر مقدار پرولین گیاه آویشن

Figure 1- Mean comparisons of interaction effect of Pb, biochar (BC) and salisilic acid (SA) on prolin content in thyme

قندهای محلول

بر اساس جدول مقایسه میانگین داده‌ها، بیش‌ترین مقدار قندهای محلول شاخساره گیاه آویشن (۰/۴۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در تیمار ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب، ۳۰۰ میکرومولار سالیسیلیک اسید و شاهد بیوچار به دست آمده است (جدول ۴). مشابه این نتیجه، Teiymouri *et al.*, (2021) نیز گزارش کرده‌اند که افزایش سطوح سرب در خاک موجب بالارفتن مقدار قندهای محلول شاخساره ریحان شده است. به عقیده Aldoobie and Beltagi(2013)، حضور سرب در منطقه ریشه و ورود آن به گیاه، بر متابولیسم قندها اثر می‌گذارد. بنابراین، افزایش قندهای محلول در تنش فلزات سنگین، یک روش سازگاری گیاه جهت تنظیم پتانسیل آب سلول در بخش سیتوزول برای مقابله با غلظت بالای یون تجمع یافته در واکوئل است (Kocal *et al.*, 2018).

کم‌ترین میزان قندهای محلول (۰/۰۷ میلی‌گرم برگرم) نیز در تیمار شاهد سرب و سالیسیلیک اسید و ۳ درصد وزنی بیوچار به‌دست آمد. به عبارتی، در حضور بیوچار، میزان قندهای محلول اندام‌های هوایی آویشن در تیمارهای دارای سرب کاهش یافت. به عقیده Teiymouri *et al.*, (2021) با توجه به اینکه در شرایط کم آبی میزان قندهای محلول افزایش می‌یابد؛ بیوچار می‌تواند با بهبود شرایط خاک و افزایش رطوبت قابل دسترس خاک، محتوی نسبی آب برگ را افزایش دهد.

وزن خشک شاخساره

بر طبق نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، بیش‌ترین وزن خشک شاخساره (۷/۳۹ گرم) در تیمار شاهد سرب، ۳۰۰ میکرومولار - سالیسیلیک اسید و ۳ درصد وزنی بیوچار به دست آمد (جدول ۵). به عبارتی، با کاربرد سالیسیلیک اسید، زیست توده گیاهی افزایش پیدا کرد. گزارش شده که سالیسیلیک اسید با افزایش جذب CO_2، سرعت فتوسنتز در گیاهان را افزایش می‌دهد (Hussain *et al.*, 2007). از طرف دیگر، بیوچار با بهبود شرایط جذب عناصر غذایی در شرایط تنش نیز باعث افزایش رشد عمومی گیاهان می‌گردد (Khashei *et al.*, 2019).

کم‌ترین وزن خشک شاخساره (۵/۲۱ گرم) نیز در تیمار ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب و شاهد بیوچار و سالیسیلیک اسید به‌دست آمد. به عبارتی، با افزایش میزان سرب خاک، به دلیل اثر بازدارندگی آن بر فعالیت‌های متابولیکی گیاه، زیست توده گیاهی کاهش پیدا کرد. به عقیده Padash *et al.*, (2016) وجود سرب در محیط ریشه با کاهش جذب و انتقال آب و مواد غذایی یا کاهش فعالیت آنزیم‌ها، موجب کاهش فتوسنتز و در نتیجه کاهش رشد و پارامترهای آن می‌گردد. همچنین گزارش شده است که با افزایش غلظت سرب در گیاه، میزان کلروفیل کاهش یافته که نمایانگر وسعت آسیب‌های اکسیداتیو است. با کاهش بیوسنتز کلروفیل، رشد عمومی و وزن خشک گیاه کاهش می‌یابد (Nagajyoti *et al.*, 2010).

ارتفاع گیاه

بر طبق نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، بیش‌ترین ارتفاع گیاه (۳۹/۶ سانتی‌متر) در تیمار شاهد سرب، ۳۰۰ میکرومولار سالیسیلیک اسید و ۳ درصد وزنی بیوچار به دست آمد (جدول ۴). نتایج پژوهش Padash *et al.*, (2016) نیز نشان داده که اثرات متقابل سرب و سالیسیلیک اسید بر ارتفاع بوته ریحان در سطح یک درصد معنی‌دار شده است. یعنی سالیسیلیک اسید کاهش رشد ناشی از فلز سرب را بهبود می‌بخشد. بنظر می‌رسد سالیسیلیک اسید جذب عناصر غذایی را در شرایط تنش بهبود داده که این خود افزایش رشد و ارتفاع گیاه را به همراه دارد (Khan *et al.*, 2015). همچنین، گزارش شده که سالیسیلیک اسید با تأثیر بر فعالیت‌های آنزیمی و تولیدات فتوسنتزی، رشد گیاه گندم (*T. aestivum*) را بهبود و منجر به افزایش ارتفاع گیاه گردیده است (Shakirova *et al.*, 2003). بیوچار نیز از راه افزایش جذب عناصر غذایی، توانایی سیستم فتوسنتزی و بدنبال آن رشد بیشتر گیاه را فراهم می‌سازد (Khashei *et al.*, 2019).

همچنین، کم‌ترین ارتفاع گیاه (۲۵/۴ سانتی‌متر) در تیمار ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب و شاهد بیوچار و سالیسیلیک اسید به‌دست آمد. به عبارتی، سرب با تاثیر منفی بر فعالیت‌های رشدی، موجب کاهش ارتفاع گیاه شده است.

تأثیر متقابل سالیسیلیک اسید، سرب نیترات و بیوچار بر ویژگی‌های ریشه آویشن

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر متقابل تیمارها (سرب× سالیسیلیک اسید × بیوچار) بر وزن خشک، حجم ($P \leq 0.01$) و طول ریشه آویشن ($P < 0.05$) معنادار بوده است (جدول ۴).

وزن خشک ریشه

بر طبق نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، بیش‌ترین وزن خشک ریشه گیاه (۵/۲۱ گرم) در تیمار شاهد سرب، ۳۰۰ میکرومولار سالیسیلیک اسید و ۳ درصد وزنی بیوچار به دست آمد (جدول ۵). Feizi *et al.*, (2021) در گیاه ریحان (*Ocimum basilicum* L.) و Teiymouri *et al.*, (2021) در گیاه مریم‌گلی (*Salvia officinalis* L.)، افزایش وزن خشک ریشه در شرایط کاربرد بیوچار را گزارش کرده‌اند.

جدول ۴- تجزیه واریانس ویژگی‌های ریشه گیاه آویشن برای اثرات سالیسیلیک اسید، سرب و بیوچار

Table 4- Analysis of variance for effects of salisilic acid (SA), biochar (BC) and Pb stress on root characteristics of thyme

منابع تغییرات Source of variation	درجه آزادی Df	طول ریشه Root length	حجم ریشه Root volume	وزن خشک ریشه Root dry weight
سالیسیلیک اسید Salisilic acid (A)	2	42.2^{ns}	119.2**	1.35^{ns}
سرب Pb (B)	2	26.6^{ns}	960.9**	8.5^{ns}
بیوچار Biocha (C)	2	12. 5^{ns}	305.2**	109.1**
A×B	4	100.7**	325.4**	27.7**
A×C	4	10.1^{ns}	98.3**	15.2*
B×C	4	38.2^{ns}	95.4**	23.3**
A×B×C	8	36.6*	125.8**	25.1**
خطا Eror	54	25.9	2.39	5.85
ضریب تغییرات (CV) (٪)	–	8.8	9.6	13.8

ns، * و ** به ترتیب عدم معناداری و معناداری در سطح پنج و یک درصد را نشان می دهد.

ns, **, * represent non-significant and significant at the probability levels of 1% 5%, respectively.

با توجه به ماهیت بیوچار، استفاده از آن با بهبود ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک و یا افزایش دسترسی عناصر غذایی مانند فسفر و نیتروژن موجب افزایش پارامترهای رشدی گیاهان و در نتیجه وزن خشک ریشه می‌شود.

کم‌ترین وزن خشک ریشه (۳/۲۱ گرم) نیز در تیمار ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب و شاهد بیوچار و سالیسیلیک اسید به‌دست آمد. Valizade *et al.*, (2020) نیز کاهش وزن تازه و خشک ریشه گیاه کاهو (*Lactuca sativa* L.) در اثر افزایش مقدار سرب خاک را گزارش کرده‌اند. در واقع در شرایط تنش سرب، به علت کاهش فعالیت‌های آنزیمی و متابولیسم سلولی، در نتیجه آن کاهش زیست‌توده و از جمله کاهش وزن خشک ریشه رخ می‌دهد (Nie *et al.*, 2018). همینطور، از جمله آثار منفی فلزات سنگین بر رشد گیاهان، کاهش مقدار هورمون‌های گیاهی، به ویژه ستوکینین است که نقش اصلی در تقسیم سلولی و رشد گیاه دارد (Jiang *et al.*, 2014).

طول و حجم ریشه

بیش‌ترین طول (۴۷/۴ سانتی‌متر) و حجم ریشه گیاه (۷۰/۵ سانتی‌متر مکعب) در تیمار شاهد سرب، ۳۰۰ میکرومولار سالیسیلیک اسید و ۳ درصد وزنی بیوچار به دست آمد (جدول ۵). Maasoumi *et al.*, (2016) نیز اشاره نموده‌اند که استفاده از سالیسیلیک اسید بر حجم، قطر، وزن و طول ریشه گیاه ماش (*Vigna radiate* L.) اثر افزایشی داشته و این نتیجه به دلیل تأثیر سالیسیلیک اسید بر تقسیم سلولی در ناحیه مریستم ریشه است. البته بعضی محققین دیگر، دلیل افزایش طول و حجم ریشه گیاه در اثر کاربرد سالیسیلیک اسید را به تأثیر مثبت آن بر افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش رادیکال‌های آزاد نسبت داده‌اند (Gunes *et al.*, 2017).

کم‌ترین طول ریشه (۱۳/۹ سانتی‌متر) و حجم ریشه گیاه (۱۰/۳ سانتی‌متر مکعب) نیز در تیمار ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب و شاهد بیوچار و سالیسیلیک اسید به‌دست آمد. فلزات سنگین و به ویژه سرب، با کاهش تقسیم سلولی موجب کاهش گسترش و طویل شدن ریشه در خاک می‌شوند (Zhou *et al.*, 2018).

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این تحقیق، بیانگر اثرات مثبت سالیسیلیک اسید و بیوچار کلزا بر کلیه صفات رویشی مانند وزن خشک اندام‌های هوایی و ریشه آویشن، بویژه در شرایط تنش سرب بود. به عبارت دیگر، تنش سرب ضمن کاهش تمامی ویژگی‌های رویشی گیاه، موجب افزایش مقادیر پرولین و قندهای محلول بخش‌های هوایی گیاه آویشن گردید. در مجموع به نظر می‌رسد که در شرایط تنش سرب، تیمار گیاه آویشن با سالیسیلیک اسید (به عنوان یک تنظیم کننده رشد گیاه) و بیوچار (به عنوان یک ماده آلی با قابلیت ماندگاری بالا در خاک)، یک روش ساده و مناسب در راستای افزایش مقاومت گیاه در برابر تنش و کاهش عوارض ناشی از سمیت سرب بر رشد کلی گیاه دارویی آویشن باشد.

جدول ۵- مقایسه میانگین‌های ویژگی‌های بخش هوایی و ریشه گیاه آویشن برای اثر برهمکنش سالیسیلیک اسید، بیوچار و سرب نیترات

Table 5– Mean comparisons of interaction effects of salicylic acid (SA), biochar (BC) and Pb stress on characteristics of thyme

سطوح بیوچار BC level (%)	سطوح سالیسیلیک اسید SA level (µmol/l)	سطوح سرب Pb level (mg/kg)	وزن خشک ریشه Root dry weight (g/pot)	طول ریشه Rroot length (cm/pot)	حجم ریشه Rroot volume)cm^3/pot(	وزن خشک برگ Leaf dry weight (g/pot)	ارتفاع گیاه Plant height)cm/pot(	قندهای محلول Soluble sugars)mg/kg(	غلظت سرب Pb concentration (mg/kg)
0	0	0	3.53^{ab}	23.4^{h-k}	27.7^{d-f}	5.66^{bcd}	30.1^{abc}	0.25^{a-d}	1.3^{i-m}
		150	3.36^{b}	20.6^{k}	17.5^{mn}	5.22^{cd}	27.3^{bc}	0.33^{abc}	3.26^{bc}
		300	3.21^{b}	13.9^{l}	10.3^{n}	5.09^{d}	25.4^{c}	0.34^{abc}	4.83^{a}
	150	0	3.76^{ab}	26.9^{e-i}	40^{e-k}	5.87^{a-d}	30.8^{abc}	0.32^{abc}	0.96^{j-m}
		150	3.53^{ab}	21.7^{jk}	37.5^{f-k}	5.25^{bcd}	39.2^{abc}	0.32^{abc}	2.92^{cd}
		300	3.4^{ab}	20.5^{k}	29.4^{j-m}	5.23^{d}	26.0^{bc}	0.41^{ab}	3.88^{b}
	300	0	4.01^{ab}	30.6^{c-e}	57.5^{a-d}	6.42^{a-d}	31.6^{abc}	0.30^{abc}	0.79^{klm}
		150	3.71^{ab}	23.4^{h-k}	43.2^{d-k}	6.31^{a-d}	31.4^{abc}	0.40^{ab}	2.31^{d-g}
		300	3.51^{ab}	21.6^{jk}	33.1^{h-m}	5.61^{a-d}	30.3^{abc}	0.46^{a}	3.31^{bc}
1	0	0	3.63^{ab}	25.1^{f-j}	36^{g-l}	5.56^{a-d}	32.6^{abc}	0.14^{bcd}	0.89^{j-m}
		150	3.46^{ab}	22.4^{ijk}	30^{i-m}	5.45^{bcd}	28.6^{bc}	0.21^{a-d}	2.92^{cd}
		300	3.3^{b}	22^{k}	20.5^{lmn}	5.44^{bcd}	26.7^{bc}	0.29^{abc}	3.91^{ab}
	150	0	4.16^{ab}	27.8^{e-i}	60.5^{abc}	6.41^{a-d}	35.6^{abc}	0.22^{a-d}	0.72^{lm}
		150	4.04^{ab}	24.5^{h-k}	48.7^{c-h}	6.08^{a-d}	34.1^{abc}	0.31^{a-d}	2.11^{e-h}
		300	3.75^{ab}	21.5^{jk}	35.1^{g-l}	5.84^{a-d}	27.5^{bc}	0.38^{abc}	2.62^{de}
	300	0	4.62^{ab}	32.2^{c}	67^{ab}	6.45^{a-d}	29^{ab}	0.20^{a-d}	0.56^{m}
		150	4.29^{ab}	31.9^{cd}	50.2^{c-g}	6.05^{a-d}	36.2^{abc}	0.31^{a-d}	1.74^{f-j}
		300	3.93^{ab}	28.4^{c-g}	45^{c-j}	5.91^{a-d}	38.6^{abc}	0.43^{ab}	2.22^{d-g}
3	0	0	4.65^{ab}	26.2^{e-i}	53.5^{b-f}	6.58^{a-d}	33.4^{abc}	0.07^{d}	0.86^{klm}
		150	4.38^{ab}	24.7^{g-k}	40.4^{e-k}	6.22^{a-d}	35.7^{abc}	0.22^{a-d}	2.36^{d-g}
		300	4.06^{ab}	22.9^{ijk}	31.5^{h-m}	5.91^{a-d}	30.4^{bc}	0.32^{abc}	2.47^{def}
	150	0	4.98^{ab}	38.4^{b}	62.1^{abc}	6.67^{ab}	30.2^{ab}	0.21^{a-d}	0.83^{lm}
		150	4.04^{ab}	30.1^{cde}	54.2^{a-e}	6.56^{a-d}	33.6^{abc}	0.31^{a-d}	1.46^{h-l}
		300	3.85^{ab}	27.4^{d-h}	35.4^{g-l}	6.38^{a-d}	28.2^{bc}	0.36^{abc}	1.91^{e-i}
	300	0	5.43^{a}	47.4^{a}	70.5^{a}	7.26^{a}	39.6^{a}	0.16^{a-d}	0.63^{g-k}
		150	4.99^{ab}	33^{c}	59^{a-d}	6.48^{abc}	30.3^{ab}	0.21^{a-d}	1.51^{g-k}
		300	4.33^{ab}	29.8^{c-f}	47.5^{c-i}	6.23^{a-d}	34.4^{abc}	0.30^{a-d}	2.46^{d-g}

در هر ستون، میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند بر اساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد اختلاف معنادار ندارند.

In each column, numbers with similar letters are not significantly different (Duncan's test, $p < 0.05$)

منابع

1. Ahmad M., Lee S., Dou X., Mohan D., Sung J., Yang J.E., and Ok Y.S. 2012. Effects of pyrolysis temperature on soybean stover-and peanut shell-derived biochar properties and TCE adsorption in water. Bioresource Technology 118: 536-544. http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2012.05.042.
2. Aldoobie N.F., and Beltagi M.S. 2013. Physiological, biochemical and molecular responses of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants to heavy metals stress. African Journal of Biotechnology 12(29): 4614-4622. https://doi.org/10.36808/if/2019/v145i2/144288.
3. Allison L.E., and Moodie C.D. 1965. Carbonate, Black Methods of soil analyses. P 1379-1396.
4. Barraza F., Montero V., Wong-Benito H., Valenzuela C., Godoy-Guzmán F., Guzmán B., Köllner T., Wang C.J., Secombes and Maisey K. 2021. Revisiting the teleost thymus: Current knowledge and future perspectives. Biology 10: 8-18. https://doi.org/10.3390/biology10010008.
5. Bates L.S., Waldren R.P., and Teare I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil 29: 205-207. http://dx.doi.org/10.1007/BF00018060.
6. Biria,M., Moezzi A., and Amirikhah H. 2016. Effect of Sugarcane bagasse biochar on maize plant growth, grown in lead and cadmium contaminated soils. Journal of Water and Soil 31(2): 609-626.

7. Bouyoucos C.J. 1962. Hydrometer method improved for making particle-size analysis of soil. Agronomy Journal 54(5): 464-465.
8. Carter S., Shackley S., Sohi T., Suy T., and Haefele S. 2013. The impact of biochar application on soil properties and plant growth of pot grown lettuce (*Lactuca sativa*) and cabbage (*Brassica chinensis*). Agronomy 3(2): 404-418. https://doi.org/10.3390/agronomy3020404.
9. Dubois D., Gilleres K.A., and Hamilton J.K. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Analytical Chemistry 28:350–356.
10. Feizi K., Amirinejad A., and Ghobadi M. 2021. The effects of biochar and salicylic acid on reducing Pb-induced stress in basil crop (*Ocimum basilicum* L.). Iranian Journal of Soil and Water Research 52(2): 539-547. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22059/IJSWR.2020.313282.668795.
11. Gunes A., Inal A., Alpaslan M., Eraslan F., Bagci E.G., and Cicek N. 2017. Salicylic acid induced changes on some physiological parameters symptomatic for oxidative stress and mineral nutrition in maize (*Zea mays* L.) grown under salinity. Journal of Plant Physiology 194(3): 728-736. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2005.12.009.
12. Hussain I., Siddique A., Ashraf M., Rasheed R., Ibrahim M., Iqbal M., Akbar S., and Imran M. 2007. Does exogenous application of ascorbic acid modulate growth, photosynthetic pigments and oxidative defense in okra (*Abelmos chusesculentus* L.) under lead stress? Acta Physiologiae Plantarum 39: 144-151. https://doi.org/10.1007/s11738-017-2439-0.
13. Jiang X.J., Luo Y.M., Liu Q., Liu S.L., and Zhao Q.G. 2014. Effects of lead on nutrient uptake and translocation by Indian mustard. Environmental Geochemistry and Health 26(2): 319-324. https://doi.org/10.1007/978-3-540-32714.
14. Khan I., Iqbal M., Ashraf M.Y., Ashraf M.A., and Ali S. 2016. Organic chelats-mediated enhanced lead (Pb) uptake and accumulation is associated with higher activity of enzymatic antioxidants in spinach (*Spinace aoleracea* L.). Journal of Hazardous Materials 317: 352-361. https://doi.org/ 10.1016/j.jhazmat.2016.06.007.
15. Khan M.I., Fatma M., Per T.S., Anjum N., and Khan A. 2015. Salicylic acid-induced abiotic stress tolerance and underlying mechanisms in plants. Frontiers in Plant Science 6: 462-770. https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00462.
16. Khasheim A., Shahidi A., Yaghoobzadeh M., and Dastourani M. 2019. Effect of biochar application and water tensin levels on yield and yield components of medicinal plant (*Trachyspermum ammi*). Iranian Journal of Irrigation and Drainage 2(13): 319-328. (In Persian with English abstract)
17. Klute A. 1986. Methods of Soil Analysis: Part 1 and 2. Physical and Chemical Methods, Second Edition. Soil Science Society of America, Inc.
18. Kocal N., Sonnewald U., and Sonnewald S. 2018. Cell wall-bound invertase limits sucrose export and is involved in symptom development and inhibition of photosynthesis during compatible interaction in tomato. Plant Physiology 148: 1523-36. https://doi.org/10.1104/pp.108.127977.
19. Leng L., Xiong Q., Yang L., Li H., Zhou Y., Zhang W., Jiang S., Li H., and Huang H. 2021. An overview on engineering the surface area and porosity of biochar. Science of Total Environment 763: 144-204. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.144204.
20. Maasoumi G., Lahouti M., and Mahmoodzadeh H. 2016. Effect of combined application of salicylic acid and zinc on germination indices and vegetative growth of mung bean. Crop Physiology Journal 8(30):121-133.
21. Mehdimiri S., Ahmadi S., and Moradi P. 2015. Influence of salicylic acid and citric acid on the growth, biochemical characteristics and essential oil content of Thyme (*Thymus vulgaris* L.). Journal of Medicinal Plants and By-Products 2: 141-146.
22. Metwally A., Finkemeier I., Georgi M., and Dietz K.J. 2015. Salicylic acid alleviates the cadmium toxicity in barley seedling. Plant Physiology 132: 272-281. https://doi.org/10.1104/pp.102.018457.
23. Nagajyoti P.C., Lee K.D., and Sreekanth T.V. 2010. Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review. Environmental Chemistry Letters 8(3): 199-216. https://doi.org/ 10.1007/S10311-010-0297-8.
24. Nie C., Yang X., Niazi N.K., Xu X., Wen Y., Rinklebe J., and Wang H. 2018. Impact of sugarcane bagasse-derived biochar on heavy metal availability and microbial activity: a field study. Chemosphere 200: 274-282. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.02.134.
25. Omidbeigi R. 2010. Production and Processing of Medicinal Plants (4^{th} Ed). Astan Ghods Razavi Publications.pp:93.
26. Padash A., Ghanbari A., and Asgharipour M.R. 2016. Effect of salicylic acid on concentration of nutrients, protein and antioxidant enzymes of basil under lead stress. Iranian Journal of Plant Biology 8(27): 17-32. (In Persian)
27. Park J.H., Choppala G. Lee S.J., Bolan N., Chung J.W., and Edraki M. 2013. Comparative sorption of Pb and Cd by biochars and its implication for metal immobilization in soils. Water, Air and Soil Pollution 224: 1-12. https://doi.org/10.1007/s11270-013-1711-1.
28. Parsa Doust F., Bahreininejad B., Safari Sanjani A.K., and Kaboli M.M. 2007. Phytoremediation of lead with native rangeland plants in Irankoh polluted soils. Pajouhesh & Sazandegi 75: 54-63. (In Persian with English abstract)
29. Pikuła D., and Stepien W. 2021. Effect of the degree of soil contamination with heavy metals on their mobility in the soil profile in a microplot experiment. Agronomy 11: 878-880. https://doi.org/10.3390/agronomy11050878.
30. Rasheed R., Ashraf M.A., Hussain I., Haider M.Z., Kanwal U., and Iqbal M. 2014. Exogenous proline and glycine

betaine mitigate cadmium stress in two genetically different spring wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. Brazilian Journal of Botany 37: 399-406. https://doi.org/10.1007/s40415-014-0089-7.

31. Shakirova F., Sakhabutdinova A., Bezrukova M.V., Fatkhutdinova R.A., and Fatkhutdinova D.R. 2003. Changes in the hormonal status of wheat seedlings induced by salicylic acid and salinity. Journal of Plant Science 164(3): 317-322. https://doi.org/10.1016/S0168-9452(02)00415-6.
32. Sharma P., and Dubey R.S. 2005. Lead toxicity in plants. Brazilian Journal of Plant Physiology 17(1): 35-52. https://doi.org/10.1590/S1677-04202005000100004.
33. Teiymouri A., Amirinejad A., and Ghobadi M. 2021. The effects of biochar and salicylic acid on alleviation of Pb stress in salvia (*Salvia afficinalis* L.). Journal of Soil and Plant Interactions 12(1): 95-108. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.47176/jspi.12.1.20161.
34. Valizadeh Ghale Beig A., Nemati S.H., Emami H., and Aroiee H. 2020. The Effect of Cutflower-Rose Waste Biochar on Morphological Traits and Heavy Metals in Lettuce (*Lactuca sativa* L.). Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture 10(4): 21-35. (In Persian with English abstract)
35. Walkley A., and Black I.A. 1934. Examination of the degtjareff method determining soil organic matter and proposed modification of the chromic acid titration method. Soil Science 37(1): 29-38.
36. Wang Z., Shen D., Wu C., and Gu S. 2018. State-of-the-art on the production and application of carbon nanomaterial from biomass. Green Chemistry 20: 5031-5057. https://doi.org/10.1039/c8gc01748d.
37. Zhou J., Zhang Z., Zhang Y., Wei Y., and Jiang Z. 2018. Effects of lead stress on the growth, physiology, and cellular structure of privet seedlings. PloS one 13(3): 137-140. https://doi.org/10.1371/journal.0191139.